10.22092/spij.2020.119084

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۴، شماره ۳، سال ۱۳۹۷

ارزیابی مقاومت برخی ژنوتیپ‌های بادمجان (*Solanum melongena* L.) به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی *(Verticillium dahlia)* در شرایط گلخانه

Evaluation of Resistance of Some Eggplant (*Solanum melongena* L.) Genotypes to *Verticilium* wilt (*Verticillium dahliae*) Disease under Greenhouse Conditions

خدیجه حافظ اشترکان[۱]، مرضیه قنبری جهرمی[۲] و داریوش شهریاری[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه باغبانی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- استادیار، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۲۱

چکیده

حافظ اشترکان، خ.، قنبری جهرمی، م.، و شهریاری، د. ۱۳۹۷. ارزیابی مقاومت برخی ژنوتیپ‌های بادمجان (*Solanum melongena* L.) به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی *(Verticillium dahlia)* در شرایط گلخانه. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۴: ۳۲۱- ۳۰۷.**

بادمجان (*Solanum melongena* L.) در اغلب مناطق ایران به خوبی به عمل می‌آید. قارچ عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی (*Verticillium dahliae*) در مراحل مختلف رشد بخصوص در هنگام گل‌دهی و تولید میوه سبب پژمردگی کامل گیاه می‌شود. کنترل با قارچ‌کش‌های جدیدامکان‌پذیر است ولی پر هزینه و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست. از این رو شناسائی ارقام مقاوم به این بیماری مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور، ابتدا جدایه‌های قارچ از مناطق مختلف استان تهران جمع‌آوری و پس از خالص‌سازی، اثبات بیماریزایی آن‌ها به روش غوطه‌ور کردن ریشه رقم حساس بادمجان ورامینی در سوسپانسیون اسپور انجام شد. تولید میکرواسکلروت (ریزسختینه) در محیط مایع صورت گرفت. ریزسختینه‌های بدست آمده به میزان‌های ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵،۴۰، ۴۵ و۵۰ عدد در هر گرم خاک گلدان مخلوط شد، سپس گیاهچه‌ها در مرحله دو برگی نشاء شدند. شدت شاخص بیماری براساس مقیاس ۷-۱ محاسبه شد. نتایج نشان داد برای ایجاد ۵۰ درصد شدت بیماری در رقم حساس بادمجان، ۲۴ میکرواسکلروت در هر گرم خاک کافی است. ارزیابی مقاومت ۲۰ ژنوتیپ بادمجان (۳۵ روز پس از مایه‌زنی) با سوسپانسیون اسپور قارچ صورت گرفت. در بررسی میانگین‌ها، چهار رقم هیبرید Hyb. Valentina14102، Hyb. Aro14701 و Valentina -1 و ژنوتیپ Bj30 با شاخص شدت بیماری در دامنه ۳۱/۵ تا ۴۹/۷ ، درگروه متحمل قرارگرفتند و تفاوت ۵۰ درصدی وزن میوه، ریشه و قسمت هوایی را در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: بادمجان، میکرواسکلروت، شدت بیماری، تحمل، وزن میوه.

نگارنده مسئول: dshahriari37@gmail.com تلفن: ۰۲۱۳۶۲۴۴۲۸۵

مقدمه

پژمردگی ورتیسیلیومی با وجود گسترش جهانی در نواحی معتدل دارای اهمیت اقتصادی بیشتری است. عامل بیمارگر قارچ (*Verticillium*) به بیش از ۲۰۰ گونه از گیاهان شامل اغلب سبزی‌ها، گیاهان زینتی، درختان میوه، توت فرنگی، گیاهان زراعی و درختان سایه‌دار و جنگلی حمله می‌کند. این قارچ در مناطق مختلف ایران مانند اصفهان (Jalali and Ahmadi, 2002) و ورامین (Sarpeleh *et al.,* 2002) از روی خیار گلخانه‌ای گزارش شده است.

تراکم جمعیت قارچ برای ایجاد ۵۰ درصد بیماری حدود ۲۲ پروپاگول در هر گرم خاک است. قارچ عامل بیماری از گروه بیماری‌های خاکزاد به شمار آمده و به صورت میسیلیوم یا اسکلروت در خاک و اندام‌های آلوده گیاه به سر می‌برد (Pegg, 2002). ریز سختینه‌ها می‌توانند تا ۱۵ سال در خاک دوام آورند (Agrios, 2005).

فعالیت بیمارگر در میزبان باعث تغییرات فیزیولوژیکی در میزبان و ظهورنشانه‌های بیماری می‌گردد. مواد غذایی لازم برای رشد قارچ در ترشحات ریشه و شیره آوندی گیاه وجود دارد و قارچ ضمن رشد تولید زهرابه‌ها و آنزیم‌های هیدرولیتیک می‌کند که در پیشرفت بیماری موثر هستند. آنزیم‌های هیدرولیتیک شامل پکتیناز، سلولاز و تنظیم کننده‌های رشد مثل اندول استیک اسید (IAA)، اتیلن و کمپلکس لیپوپلی ساکارید- پروتئین (PLP) که در اثر فعالیت و رشد قارچ تولید می‌شوند در ایجاد نشانه‌ها و پیشرفت بیماری موثر هستند (Keen *et al.,* 1971; Keen *et al.,* 1972; Mussel, 1973; Maca *et al.,* 1981; Wilhelm *et al.,*1985; Hilloks, 1992).

بیش از چهارصد گونه گیاهی میزبان قارچ *Verticillium dahliae* می‌باشند (Maca *et al.,* 1981; Hilloks, 1992). گیاهانی مثل پنبه، آفتابگردان، بادام زمینی، سیب زمینی، گوجه‌فرنگی، بادمجان، فلفل، نخود فرنگی، کدو، طالبی، هندوانه، پیاز، زیتون، پسته، زردآلو، زرشک، رز، میخک و علف‌های هرز گاوپنبه (*Abutilon* sp.)، تاج خروس وحشی (*Amaranthus* sp.)، توق (*Xanthium* sp.) و سلمک (*Chenopodium* spp.) از میزبان‌های مهم آن محسوب می‌شوند (Maca *et al.,* 1981).

علاوه بر این بیمارگر قادر است در روی سطح ریشه تعدادی از گیاهان غیرمیزبان رشد کرده و مایه آن افزایش یابد (Schnathorst and Mathre, 1966; Maca *et al.,* 1981; EL-Zik, 1985). ریسه قارچ در گیاهانی که میزبان هستند از سطح ریشه عبور کرده و وارد بافت آوندی می‌شود اما در گیاهانی که میزبان نیستند ریشه قادر به رخنه نبوده و با یک واکنش فوق حساسیت مواجه و متوقف می‌گردد (Maca *et al.,* 1981).

در سطح ریشه بعضی از این گیاهان قارچ تکثیر شده و زنده باقی می‌ماند. قارچ‌های *Verticillium* و *Fusarium* سطح ریشه بسیاری از گیاهان میزبان و غیر میزبان را کلونیزه می‌کنند. ورتیسیلیوم سطح ریشه گیاهان ایمن مانند گندم تا حساس مثل نخود را کلونیزه می‌کند (Schreiber and Green, 1963; Zakeri and Banihashemi, 1996; Maca *et al.,*1981).

معمولاً جدایه‌های مختلف در بیماریزائی و دیگر خصوصیات متفاوتند. اگر چه بعضی از استرینهای ورتیسیلیوم دارای خصوصیات اختصاصی روی ارقام هستند ولی بیشتر آنها دامنه وسیعی از گیاهان را آلوده می‌کنند. خاک‌های کشاورزی ممکن است بیش از صد ریزسختینه در هر گرم خاک داشته باشند ولی ۵۰ تا ۶۰ ریزسختینه در هر گرم خاک برای ایجاد صددرصدی بیماری در ارقام حساس بادمجان، فلفل، سیب زمینی و گوجه فرنگی کافی است (Himelick, 1997).

به منظور دستیابی به ارقام مقاوم یا متحمل به پژمردگی ورتیسیلیومی بادمجان، پژوهشی در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ بر روی ۱۴ رقم و لاین و دو گونه وحشی در ترکیه انجام شد. نتایج نشان داد که فقط دو رقم نسبت به بیماری مقاوم، یک رقم متحمل و بقیه حساس بودند (Basay *et al.*, 2011). براورمن (Braverman, 1963) ۲۹۰ لاین از ارقام اولیه اصلاح شده بادمجان در برابر *V. dahliae* ارزیابی کرد. در این لاین‌ها که اکثراً از ترکیه بودند تنها پنج لاین واکنش تحمل را در برابر بیماری نشان دادند.

توده ژنتیکی PI388846 از یکی از گونه‌های وحشی بادمجان (*S. linnaeanum*) مقاومت خوبی نسبت به پژمردگی ورتیسیلیوم دارد (Liu *et al*., 2015). شناسایی و انتقال ژن مقاومت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی به ارقام بادمجان امکان اصلاح ارقام تجاری مقاوم به بیماری را فراهم می‌آورد. به این منظور در پژوهشی امکان دورگ‌گیری و تلاقی برگشتی بین PI388846 و ارقام بادمجان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقاومت به بیماری با موفقیت به ارقام بادمجان انتقال یافت و ویژگی‌های زراعی هیبریدهای بین گونه‌ای بوسیله تلاقی‌های برگشتی پی در پی در ارقام اصلاح شده بهبود یافت (Liu *et al*., 2015).

این پژوهش به منظور ارزیابی مقاومت برخی ژنوتیپ‌های بادمجان نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی (*Verticillium dahliae*) در سال ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی منابع طبیعی استان تهران در ورامین انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری و جداسازی و خالص سازی قارچ

در سال۱۳۹۵ از مزارع مختلف بادمجان در شهرستان‌های استان تهران بازدید بعمل آمد و بوته‌هائی که دارای علائم پژمردگی در برگ‌ها

و هم‌چنین نکروز قهوه‌ای در آوند چوبی بودند جمع‌آوری و کدگذاری شدند . برای جداسازی قارچ عامل بیماری ابتدا قطعه‌هائی به طول ۷-۵ سانتی‌متر از ساقه و شاخه‌های آلوده جدا و سپس به مدت یک دقیقه در الکل اتیلیک ۹۷٪ قرار داده شدند.

قطعات شاخه فقط چند ثانیه روی شعله آتش قرار داده شده، سپس با اسکالپل برش‌های طولی و نازک از آوند چوبی تهیه گردیدند. برش‌های آماده روی محیط (P.D.A) و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ۷۲ ساعت پس از رشد کلنی و اسپورزائی به روش سری رقت یک میلی‌لیتر از آخرین لوله آب حاوی اسپور روی محیط آب آگار (W.A) ریخته شد و ۴۸ ساعت بعد اسپورهای جوانه زده از محیط جدا و به وسط تشتک پتری حاوی P.D.A منتقل شدند.

اثبات بیماری‌زائی و شناسائی

ابتدا به منظور تکثیر قارچ یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کنیدیوم روی محیط P.D.A در تشتک پتری پخش شد. در بخش دیگر بذرهای بادمجان رقم ورامینی (حساس به بیماری) در سینی کشت حاوی پیت ماس استریل کاشته شدند. بعد از ظهور گیاهچه و در مرحله دو تا سه برگی گیاهچه‌ها همراه با بستر پیت ماس به مدت دو دقیقه در سوسپانسیون اسپور هر یک از جدایه‌های قارچ به نسبت $۲/۵×۱۰^{۶}$ قرار داده شدند و سپس در خاک سترون به تعداد دو بوته در هر گلدان کاشته شدند (Zhou *et al.,* 2014).

برای شناسائی گونه *Verticilium dahliae* از مشخصات قارچ شامل: کنیدیوفورها، دیواره‌ها، انشعابات کوتاه یا فراهم در قسمت‌های مختلف کنیدیوفورها، فیالیدهای فلاسکی شکل نوک تیز، تشکیل کنیدیوم‌ها (بیضوی، تخم‌مرغی شکل یا کروی، تک سلولی، شفاف تا کمی رنگی) وهمچنین شکل میکروسکلروت استفاده شد (Zare, 2003).

تعیین حداقل جمعیت ریزسختینه (میکرواسکلروت) در بیماریزائی

برای تولید ریز سختینه (میکرواسکلروت) با روش هال و لی (Hall and Ly, 1972) ابتدا محیط کشت حاوی قند گلوکز، KH_2PO_4، $MgSO_4,7H_2O$، $MnSO_4,H_2O$، $Na_2Mo_4,\ 2H_2O$ و KNO_3 تهیه شد. محیط فوق به میزان ۵۰ میلی‌لیتر در ارلن مایرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. پس از سرد شدن دیسک‌های پنج میلی متری از کشت ۱۰ روزه جدایه JV-22 به تعداد پنج دیسک به ازای هر ارلن مایر اضافه شد. ارلن‌ها در دمای $۲۵^{\circ}C$ به مدت ۳۰ روز تا تشکیل کامل میکرواسکلروت‌ها نگهداری شدند.

پس از این مدت، تراکم جمعیت ریز سختینه (میکرواسکلروت) با لام هموسیتومتر تعیین گردید. سپس با مقدار ۱۰۰ گرم ماسه مخلوط و

جمعیت آن به ازای هر گرم ماسه تعیین گردید. مخلوط فوق با میزان مشخصی از خاک گلدان حاوی کود، ماسه و خاک سترون ترکیب شد تا نسبت های ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ میکرواسکلروت به ازای هر گرم خاک بدست آید.

نشاءهای بادمجان رقم حساس (ورامین) در مرحله ۲-۳ برگی به تعداد دو گیاهچه در هر گلدان کاشته شدند. آبیاری در طول آزمایش به طور منظم انجام شد. این آزمایش با پنج تیمار و شاهد سالم بدون سختینه (اسکلروت) در چهار تکرار در قالب طرح کامل تصادفی در گلخانه اجرا شد. شاخص شدت بیماری پس از ظهور علائم ۳۵ روز بعد از مایه زنی با استفاده از مقیاس زیائو و لین (Xiao and Lin, 1995) یادداشت برداری شدند(جدول ۱).

جدول ۱- نمره‌های آلودگی و شدت آلودگی به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بادمجان بر اساس روش زیائو و لین (Xiao and Lin, 1995)

Table 1. Infection score and disease severity of eggplant *Vereticilium* wilt disease following Xiao and Lin (1995) method

نمره آلودگی Infection score	درصد برگ با علائم نکروز Leaves with necrosis symptom (%)	Remarks	ملاحظات
1	0	Healthy or no symptoms	سالم یا بدون علائم
2	1-20		
3	21-40		
4	41-60		
5	61-80		
6	81-100		
7		Dead plant	گیاه مرده

پس از ثبت علائم و شدت آلودگی،شاخص شدت بیماری (Disease Severity Index = DSI) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\mathrm{DSI} = \frac{\sum(i \times P_i)}{i_{max} \times P_{total}} \times 100$$

i = نمره آلودگی؛ P_i = تعداد گیاهان با نمره i مشابه، i_{max} = بالاترین نمره آلودگی؛ P_{total} = تعداد کل گیاهان مایه زنی شده.

ارزیابی واکنش ارقام مختلف بادمجان

در این مرحله بذر ۲۰ رقم بادمجان شامل ارقام تجاری از شرکت فلات ایران، فروشگاه‌های بذر و همچنین از بخش تحقیقات سبزی و صیفی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر تهیه شد.

بـذرهای مـورد آزمـایش ابتـدا در کلـراکس ۱۰٪ بمدت ۲ دقیقه ضـدعفونی سـطحی شـدند و سپس در سینی کشـت حـاوی پیت‌مـاس کاشـته گردیدند.

بـرای تهیـه مایـه تلقـیح قـارچ *V. dahliae* از کشت هفـت روزه جدایـه JV-22 سوسپانسـیون اسـپور تهیـه و روی محـیط P.D.A (شـرکت مرک) به میزان یـک میلی‌لیتـر در تشـتک پتـری پخش شد. ده روز بعد از نگهداری در تاریکی و دمـای ۲۲ درجـه سـانتی‌گراد ، اسـپور و ریـز سـختینه‌های (میکرواسـکلروت‌های) تولیـد شـده در سـطح محـیط بـا اسـکالپل در آب مقطـر جمع‌آوری و بعد از عبـور از پارچـه ململ بـا لام هموسـتیومتر شـمارش شـدند. سـپس ریشـه گیاهچه‌های ارقام مختلـف بادمجـان در مرحلـه ۲ تـا ۳ برگـی بـه مـدت ۵ دقیقـه در سوسپانسـیون اسپور به میزان CFU/ml $۱۰^۶$×۱-۵ قرار گرفتند. نشاءهای مایه زنی شده بـه تعـداد دو بوتـه در هـر گلـدان کاشـته شـد. ایـن آزمـایش در قالـب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بـا چهـار تکـرار در شـرایط گلخانـه در دمـای ۱۸-۲۴ درجـه سـانتی‌گراد و رطوبـت نسـبی ۶ تـا ۷۰ درصـد بـا آبیاری منظم اجرا شد. در این آزمـایش بادمجـان رقم ورامین به عنوان شاهد حساس در نظر گرفتـه شد.

یادداشـت‌برداری از علائـم بیمـاری بـا ظهـور پژمردگـی و خشـکیدگی در برگهـا پـنج هفتـه بعـد از مایـه‌زنی صـورت گرفـت. در ایـن آزمـایش نیـز شـاخص شـدت بیمـاری (DSI) محاسـبه گردیـد (Xiao and Lin, 1995). واکـنش ارقـام براسـاس الگـوی ژو و همکـاران (Zhou *et al.,* 2012) و بـر اسـاس شـاخص شـدت بیمـاری مطـابق روش زیـائو و لـین (Xiao and Lin, 1995) تعیین شد. نحوه تعیـین واکنش‌هـا بـه صـورت زیـر بـود:

واکنش Reaction	شاخص شدت بیماری Disease Severity Index = DSI
مقاوم (Resistant = R)	DSI ≤ 15
نیمه مقاوم (Mederately Resistant = MR)	DSI ≤ 30
متحمل (Tolerant = T)	DSI ≤ 50
نیمه حساس (Mederately Susceptiple = MS)	DSI ≤ 70
حساس (Susceptiple = S)	DSI ≤ 70

شدت بیماری و وزن تر قسمت هوایی وریشـه گیاه بادمجان، پس از خـارج کـردن ریشـه هـا از گلـدان‌ها وشتشـوی کامـل تـوزین و یادداشـت شـدند. بـرای محاسـبه وزن خشـک، انـدام گیـاه

ریشه و قسمت هوایی در ظروف شیشه‌ای در آون در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. بافت حاصله با ترازوی حساس وزن شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه واریانس شد و میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

جمع‌آوری، اثبات بیماریزایی و شناسایی

در اولین مرحله از انجام تحقیق، نمونه برداری از ۱۸ منطقه واقع در شهرستان‌های ورامین، پیشوا، پاکدشت، کرج و ساوه (گلخانه‌های ناحیه آوه) صورت گرفت. بوته های بادمجان با علائم زردی، پژمردگی، نکروز بین رگبرگی و آوند چوبی قهوه‌ای (در برش عرضی) جمع‌آوری شد. در آزمایشگاه از بافت آوند چوبی روی محیط غذایی P.D.A ۱۵ جدایه قارچ *Verticilium* جدا گردید. همه جدایه‌ها روی بادمجان رقم ورامینی اثبات بیماریزایی شدند.

در این بررسی علائم بیماری شامل زردی، پژمردگی جوانه انتهایی، تغییر رنگ آوندهای چوبی سه تا چهار هفته بعد از مایه زنی بطور واضح در بادمجان دیده شد. از کشت بافت‌های آلوده روی محیط غذایی P.D.A مجدداً قارچ *Verticilium* جدا شد (شکل ۱).

پرگنه قارچ روی محیط P.D.A ابتدا سفید ولی بتدریج تیره با حاشیه خاکستری بود. میسیلیوم‌های روشن، کنیدیوفورهای مستقیم، دیواره‌دار با انشعابات کوتاه بصورت شاخه‌دار در نقاط مختلف کنیدیوفور قرار گرفتند. کنیدیوفورها منشعب با ۳ تا ۴ فیالید در محل انشعابات به حالت فراهم یا منطبق ظاهر شدند. کنیدی‌ها بیضی شکل، شفاف و یک سلولی کوچک در انتهای کنیدیوفور تولید شدند. روی کنیدیوفور فیالیدهای فلاسکی شکل و در انتها نوک تیز و کنیدیوم‌ها بصورت انفرادی یا مجتمع در نوک آنها تشکیل شدند. مجموعه مشخصات قارچ بیمارگر با قارچ *Verticilium dahliae* مطابقت داشت و از این نظر جدایه‌های بدست آمده و اثبات بیماریزائی شده تحت نام *V. dahliae* شناسائی شدند (Hilloks, 1992; Zare, 2003).

تعیین حداقل جمعیت میکرواسکلروت در ایجاد بیماری

تجزیه واریانس داده‌های شاخص شدت بیماری، وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوائی نشان داد که بین تیمارهای مختلف اسکلروت از نظر صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش تعداد میکرواسکلروت از ۲۰ عدد به ازای هر گرم خاک تا ۵۰ عدد شاخص شدت بیماری افزایش یافت و به ترتیب با افزایش میکرواسکلروت از ۲۰ تا ۵۰ به ازای هر گرم



شکل ۱- کلنی قارچ *Verticillium dahliae* هفت روز بعد از کشت (سمت چپ) علایم بیماری، زردی و نکروز مثلثی روی برگ و قهوه‌ای شدن آوند چوبی در بوته بادمجان مایه‌زنی شده با قارچ (سمت راست و وسط)

Fig. 1. Seven-day old colonies of *V. dahliae*, (left), and Symptoms of the disease, yellowing and triangular necrotic areas on the leaf and browning trachea in inoculated eggplant (right and middle)

خاک شدت بیماری هم از ۳۴/۲۸ تا ۹۱/۸۶ افزایش داشت (جدول ۲). طبق محاسبه ساده ریاضی مشخص گردید برای ایجاد بیماری در رقم حساس بادمجان با شدت ۵۰ درصد، تعداد ۲۴ میکرواسکلروت به ازای هر گرم خاک کافی است.

ارزیابی مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های بادمجان

تجزیه واریانس داده‌های شاخص شدت بیماری و خصوصیات رشدی ارقام نشان داد که بین ارقام مورد بررسی از نظر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. مقایسه میانگین‌های شاخص شدت بیماری نشان داد که ارقام و ژنوتیپ‌های EP11028، بادمجان ورامین، V44، N12، DRA668، Porosid Black Beauty، Sohrab، D13، D7، (1) Black Beauty، EP11025 و Lady به ترتیب با۹۸/۲ الی ۷۱/۴ بابیش از ۷۰ درصد شاخص شدت بیماری بیشترین آلودگی به بیماری را داشتند (جدول ۳). با توجه به مقیاس تعیین واکنش به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پیشنهاد شده توسط ژو و همکاران (Zhou *et al.,* 2012) به عنوان حساس ارزیابی شدند.

ارقام و ژنوتیپ‌های Y6، بادمجان جهرمی، (2) Black Beauty و Mirabella به ترتیب با شاخص‌های شدت بیماری ۶۹/۶، ۶۲/۴۷، ۶۰/۶۷ و ۵۶/۹۷ درصد در محدوده ۵۰ الی ۷۰ درصد آلودگی و در گروه نیمه حساس به بیماری قرارگرفتند.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی بادمجان در غلظت‌های میکرواسکلروت مختلف قارچ *V. dahliae* در خاک

Table 2. Mean comparison of disease severity index based on different concentrations of microsclerotia of *V. dahliae* in soil

تعداد میکرواسکلروت در گرم خاک Microsclerotium no. per gram soil	شاخص شدت بیماری (درصد) Disease severity index (%)
0	15.75f
20	88.50a
25	78.00b
30	65.75c
35	55.25d
40	28.00e
45	15.75f
50	55.25d

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارد.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

ارقام Hyb. Valentina14102، Hyb. Aro14701 و Valentina-1 و لاین Bj30، به ترتیب شاخص شدت بیماری ۳۳/۹۰، ۳۳/۸۸، ۳۰/۳۰ و ۳۵/۶۷ درصد در محدوده ۳۰ الی ۵۰ درصد آلودگی به عنوان ارقام و ژنوتیپ متحمل به بیماری تعیین شدند. در این بررسی کمترین شاخص شدت بیماری برای رقم Valentina -1 با ۳۰/۳۰ درصد آلودگی ثبت شد ولی هیچیک از ارقام و ژنوتیپ‌ها نیمه مقاوم یا مقاوم ارزیابی نشدند (جدول ۳).

مقایسه میانگین وزن تر اندام‌های هوائی و وزن تر ریشه ارقام و ژنوتیپ بادمجان پس از آلودگی به قارچ *V. dahliae* نشان داد که ارقام و ژنوتیپ‌های EP11028، بادمجان ورامین، V44، N12، DRA668، Porosid Beauty Block، Sohrab، D7، D13، Black Beauty (1)، EP11025 و Lady با بیشترین شاخص شدت بیماری، وزن تر و خشک اندام‌های هوائی و ریشه و وزن میوه به مراتب کمتر از ارقام و ژنوتیپ‌های Hyb. Valentina14102، Hyb. Aro14701، Bj30 و Valentina -1 با شاخص شدت بیماری کمتر (گروه ارقام یا ژنوتیپ‌های متحمل) بود (جدول ۴). در مورد بقیه ارقام نیز این حالت دیده شد.

در کلیه ارقام و ژنوتیپ‌های ارزیابی شده هر چه شاخص شدت بیماری بالاتر بود وزن تر اندام‌های هوائی، ریشه و میوه آن‌ها در مقایسه با ارقامی که شاخص شدت بیماری کمتری داشتند کمتر بود. این نتایج به خوبی اثر آلودگی بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی بر خصوصیات رشدی گیاه بادمجان را نشان داد. نتایج همچنین نشان داد که در ارقام و ژنوتیپ‌های حساس کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوائی، ریشه و میوه بیشتر از ارقام و ژنوتیپ‌های نیمه‌حساس بود (شکل ۲).

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری و واکنش ژنوتیپ‌های بادمجان به قارچ *Verticilium dahliae*

Table 3. The mean comparison of disease severity index and the response of different eggplant genotypes to *Verticilium dahliae*

ژنوتیپ Genotype	شاخص شدت بیماری (درصد) Disease severity index (%)	Response	واکنش
EP11028	98.2a	S	حساس
Hyb.Valentina14102	33.90f	T	متحمل
Sohrab	83.90abcd	S	حساس
Lady	71.40bcde	S	حساس
EP11025	74.98abcde	S	حساس
Black beauty Porosid	89.25abc	S	حساس
Mirabella	56.97e	MS	نیمه حساس
Black Beauty (1)	76.75abcde	S	حساس
Jahromi Eggplant	62.47de	MS	نیمه حساس
DRA668	89.25abc	S	حساس
Varamin Eggplant	94.60ab	S	حساس
Black Beauty (2)	60.67de	MS	نیمه حساس
Hyb.Aro14701	33.88f	T	متحمل
D7	82.13abcd	S	حساس
Bj30	35.67f	T	متحمل
Y6	69.60cde	MS	نیمه حساس
V44	92.82abc	S	حساس
D13	83.88abcd	S	حساس
N12	89.27abc	S	حساس
Valentina -1	30.30f	T	متحمل

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪تفاوت معنی‌دار ندارد.

Means followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

پژمردگی ورتیسیلیومی ناشی از قارچ *Verticillium dahliae* جزء بیماری‌های خاکزاد و یک چرخه‌ای و مخرب در محصول بادمجان است (Smith, 1965). بادمجان در تمام مراحل رشد به این بیماری حساس است ولی علائم بیماری و بیشترین خسارت در زمان میوه‌دهی مشاهده می‌شود. گیاهان آلوده کوتوله مانده، میوه‌های کوچک و نامرغوب تولید می‌کنند، اگر ریشه و ساقه آلوده به طور عرضی برش داده شوند آوندها ی چوبی به رنگ قهوه‌ای دیده می‌شوند. این قارچ در خاک به صورت ریز سختینه زمستان‌گذرانی می‌کند که می‌توانند تا ۱۵ سال در خاک دوام آورند (Agrios, 2005).

جدول ۴- مقایسه میانگین وزن میوه (اولین برداشت)، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ژنوتیپ‌های بادمجان در شرایط آلودگی به قارچ *Verticilium dahlia*

Table 4. Mean comparison of fruit weight (first harvest), dry and fresh weight of roots and shoots of different eggplant genotypes infected by *Verticilium dahliae*

ژنوتیپ Genotype	وزن میوه در اولین برداشت (گرم در گیاه) Fruit weight in first harvest ($gplant^{-1}$)	وزن تر اندام هوایی (گرم در گیاه) Shoot fresh weight ($gplant^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گیاه) Shoot dry weight of ($gplant^{-1}$)	وزن تر ریشه (گرم در گیاه) Root fresh weight ($gplant^{-1}$)	وزن خشک ریشه (گرم در گیاه) Root dry weight ($gplant^{-1}$)
EP11028	7.37h	12.69hi	1.86efg	1.38gh	0.39ghi
Hyb.Valentina14102	97.75ab	58.65a	9.29a	7.52c	1.39cde
Sohrab	23.00fgh	22.27fghi	3.42defg	1.66fgh	0.41ghi
Lady	51.75defg	31.47defg	3.68def	3.72def	0.82defghi
EP11025	45.50defg	28.05defgh	3.72def	3.41defg	1.46cd
Black BeautyPorosid	24.25fgh	17.64ghi	2.04efg	2.24efgh	0.91defgh
Mirabella	81.75abcde	38.33cde	5.22cd	3.96de	1.22cdef
Black beauty(1)	45.75defg	26.49defghi	3.31defg	3.07efgh	1.04defg
JahromiE	67.75bcde	40.88bcd	5.08cd	5.20d	1.75bc
DRA668	35.00efgh	21.42fghi	2.74efg	2.15efgh	0.53ghi
Varamini Eggplant	15.50gh	11.59i	1.17g	1.07h	0.25i
Black Beauty(2)	55.00cdef	34.65def	4.05de	3.76def	1.06defg
Hyb.Aro14701	106.5a	50.58abc	6.39bc	8.65bce	2.21b
D7	38.25efgh	25.02efghi	3.10defg	2.39efgh	0.71fghi
Bj30	89.75abc	54.12ab	8.04ab	10.14ab	2.80a
Y6	51.75defg	27.27defghi	3.29defg	2.99efgh	0.80efghi
V44	7.750h	14.09hi	1.73fg	1.31gh	0.35hi
D13	82.25abcde	39.12cde	5.01cd	3.45de	1.17cdef
N12	29.25fgh	16.21ghi	1.74fg	1.84efgh	0.43ghi
Valentina -1	93.00ab	63.13a	9.10a	10.81a	3.03a

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارد.

Means followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

در این تحقیق ابتدا به مناطق مختلف استان تهران و البرز مراجعه و جمعاً ۱۵ جدایه قارچ عامل این بیماری از نمونه‌های جمع‌آوری شده تهیه شد که تحت نام *V. dahliae* اثبات بیماریزایی وشناسایی گردید. بیماری‌زائی جدایه‌های مختلف قارچ عامل بیماری که در این اثبات شد با کارهای گروگان (Grogan *et al.,* 1979) روی گیاه گوجه فرنگی مشابهت دارد. آنها نشان دادند جدایه‌های *Verticillium* بدست آمده از مزارع گوجه‌فرنگی کالیفرنیا ۴۷ درصد جدایه (۱۲۴ جدایه) مربوط به نژاد ۲ و ۴۲ درصد مربوط به نژاد ۱ و بقیه غیر بیماری‌زا بودند و نژاد ۱ دارای قدرت بیماری‌زائی بالاتری نسبت به نژاد ۲ بود. آنها بیان داشتند ارقامی که فاقد ژن مقاومت به ورتیسیلیوم (Ve) بودند و بیان ژن Ve در آن‌ها به سرعت توسط این نژاد آلوده شدند. این در حالی است که درصد وقوع بیماری نژاد ۱ روی ارقام مقاوم در شرایط مزرعه صددرصد بود (Grogan *et al.,* 1979).

در تحقیق حاضر، نتایج آزمایش انجام شده



شکل ۲- مقایسه رقم متحمل بادمجان (Valentina -1) با رقم حساس بادمجان (ورامین) به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی (a): علایم زردی، کوتولگی دررقم حساس و متحمل، (b): قهوه‌ای شدن آوند چوبی و تراکم ریشه در رقم حساس و آوند سالم در رقم متحمل

Fig. 2. Comparison of tolerant cultivar (Valentina -1) with susceptible cultivar (Varamin) to *Verticillium* wilt disease (a): yellowing and stunting on susceptible and tolerant cultivars, (b): browning trachea and root density on susceptible cultivar and healthy veins in tolerant cultivar

برای تعیین حداقل جمعیت ریز سختینه در گرم خاک نشان داد که در غلظت ۲۰ ریز سختینه، درصد شدت بیماری در رقم بادمجان ورامینی بیش از ۵۵ درصد بود. نتایج تحقیقات هیملیک (Himelick, 1997) نشان داد جدایه‌های مختلف این قارچ در بیماری‌زائی و دیگر خصوصیات متفاوتند، اگر چه بعضی از جدایه‌های ورتیسیلیوم دارای خصوصیات اختصاصی روی ارقام هستند ولی بیشتر آنها دامنه وسیعی از گیاهان را آلوده می‌کنند.

خاک‌های کشاورزی ممکن است بیش از ۱۰۰ میکرواسکلروت در هر گرم خاک داشته باشند ولی ۵۰ تا ۶۰ میکرواسکلروت در هر گرم خاک برای ایجاد صد در صد بیماری در گیاهان حساسی مثل بادمجان، فلفل، سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی کافی است. نتایج این تحقیق همچنین با بررسی‌های پگ (Pegg, 2002) که تراکم جمعیت قارچ برای ایجاد ۵۰ درصد بیماری حدود ۲۲ میکرواسکلروت در هر گرم خاک را گزارش کرده است، مطابقت دارد.

در این تحقیق مقاومت ۲۰ رقم بادمجان موجود در بازار که توسط کشاورزان کشت می‌شود در مقابل جدایه *Verticillium* در شرایط گلخانه ارزیابی شد. نتایج نشان داد ارقام مختلف واکنشهای متفاوتی را در برابر قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلومی دارند. به طوریکه ۱۲ رقم با شدت بیماری بیش از ۷۰ درصد آلودگی (۶۰ درصد ارقام مورد آزمایش) در گروه حساس قرارگرفتند. چهار رقم یا ژنوتیپ دیگر مثل Y6، بادمجان جهرمی، (2) Black Beauty و Mirabella (۲۰ درصد کل ارقام) به عنوان نیمه حساس و ارقام و

ژنوتیپ‌های Hyb.Valentina14102، Hyb.Aro14701، Bj30 و Valentina -1 (۲۰ درصد ارقام مورد آزمایش) به عنوان محتمل شناسایی شدند.

دستاوردهای پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات انجام شده توسط تاری و همکاران (Tari *et al.,* 2015) در ارزیابی مقاومت ارقام بادمجان به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی مشابهت دارد. در مطالعات ایشان هفت رقم شامل پاسارگاد، Volentala، هیبرید آرو، Lady، Sohrab، (2) Black Beauty و Minabella در گروه محتمل (T) به بیماری در دامنه ۳۱/۵ تا ۴۹/۷ درصد شاخص بیماری گزارش شدند. ژو و همکاران (Zhou *et al.,* 2012) چهارده رقم بادمجان آلوده شده به *V. dahliae* را برای مقاومت به پژمردگی ورتیسیلیومی براساس وقوع بیماری (DI) و شاخص بیماری (DSI) بررسی کرد و ارقام بادمجان را به گروههای مقاوم(R)، نیمه مقاوم (MR)، محتمل (T)، نیمه حساس (MS) و حساس (S) گروه‌بندی کردند.

اوبراین و همکاران (O'Brien *et al.,* 1983) تعداد ۴۷۳ رقم و لاین بادمجان جمع‌آوری شده از اروپا، امریکا، آفریقا و آسیا (یک رقم از ایران) را از نظر مقاومت به *V. dahliae* ارزیابی و گزارش کردند. سه رقم از هند شامل ۱۶۴۴۵۸، ۳۸۱۱۶۰، ۳۸۱۱۶۶، رقم ۳۲۰۵۰۴ از کانادا و رقم ۲۸۶۰۹۹ از آمریکا کمترین حساسیت به بیماری را نشان دادند. در حالیکه ارقام و هیبریدهای Florida Market، Harris 468، Harris 77631 و Hibush بیشترین حساسیت به بیماری را داشتند. رقم ایرانی تحت شماره ۲۵۱۵۰۶ نیز با شاخص شدت بیماری ۳/۰۹ درصد در گروه ارقام محتمل قرار گرفت.

باتوجه به نتایج حاصله از پژوهش حاضر و وجود تفاوتهای زیاد بین جدایه‌های *V. dahliae* پیشنهاد می‌شود تحقیقات جامعی به منظور شناسایی سویه‌ها یا نژادهای احتمالی این قارچ با استفاده از روشهای مورفولوژیکی و مولکولی صورت گیرد. همچنین بررسی های بیشتر برای یافتن ارقام مقاوم بادمجان جدید توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان بدینوسیله از مدیریت مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران برای فراهم کردن امکانات گلخانه‌ای مورد نیاز این پژوهش تشکر می‌کنند.

References

Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th edition. Academic Press, New Yorke, USA. 922 pp.

Basay, S., Senzi, V., and Tezcan, H. 2011. Reaction of eggplant cultivars and lines to verticillium wilt caused by *Verticillium dahlia* Kleb. African Journal of Biotechnology 101 (18): 3571-3573.

Braverman, S. W. 1963. Screening eggplants for resistance to *Vertticillium* wilt. Phytopathology 53: 347 (Abstract).

EL-Zik, K. M. 1985. Integrated control of *Verticillium* wilt of cotton. Plant Disease 69: 1025-1042.

Grogan, R. G., Ioannou, N., Schneider, R. W., Salt, M. A., and Kimble, K. A. 1979. *Verticillium* wilt on resistant tomato cultivars in california: virulence of isolates from plants and soil and relationship of inoculum density to disease incidence. Phytopathology 69: 1176-1180.

Hall, R. and Ly, H. 1972. Development and quantitative measurement of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Canadian Journal of Botany 50: 2097- 2102.

Hilloks, R. J. 1992. Cotton diseases. 2nd edition. C.A.B. International, Wallingford, UK. 77 pp.

Himelick, E. B. 1997. *Verticillium* wilt of trees and shrubs. Illinois Natural History Survey. Leaflet B-1.

Jalali, S., and Ahmadi, A. 2002. Isolation of *Verticillium dahliae* from cucumber plants in greenhouses of Isfahan province. Pp. 179. In: Proceedings of 15th Iranian Plant Protection Congress. (in Persian).

Keen, N. T., Long, M., and Erwin, D. C. 1971. Evidence against involvement in *Verticillium* wilt of cotton. Phytopathology 61: 198-203.

Keen, N. T., Long, M., and Erwin, D. C. 1972. Possible involvement of a pathogen-produced protein-lipopoly saccharide complex in *Verticillium* wilt of cotton. Physiological Plant Pathology 2: 317-331.

Liu, J., Xiaohui, Z., Zhou, X., Feng, C., and Zhuang, Y. 2015. Improving the resistance of eggplant (*Solanum melongena*) to *Verticillium* wilt using wild species *Solanum linnaeanum.* Euphytica. 201(3): 463-469.

Maca, M. E., Bell, A. A., and Beckman, C. H. 1981. Fungal wilt disease of plants. Academic Press, New Yorke, USA. 640 pp.

Mussel, H. W. 1973. Endopolygalacturonase: evidence for involvement in *Verticillium* wilt of cotton. Phytopathology 63: 62-70.

O'Brien, M. J. 1983. Evaluation of eggplant accessions and cultivars for resistance to *Verticillium* wilt. Plant Disease 67: 763-764.

Pegg, G. F. 2002. *Verticillium* wilts. CAB Publishing, Wallington, UK. 576 pp.

Sarpeleh, A., Shahriari, D., Rafezi, R., and Sonbolkar, A. 2002. The occurrance of cucumber *Verticillium* wilt in the greenhouses of Varamin area and resistance evaluation of different cultivars to the disease. Pp. 47. In: Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress.

Schnathorst, W. C., and Mathre, D. E. 1966. Host range and differantation of a severe form of *Verticillium albo-artum* in cotton. Phytopathology 56: 1155-1165.

Schreiber, L. R., and Green, R. J. 1963. Effect of root exdudates on germination of conidia and microscelerotia of *Verticillium albo-artum* inhibited by the soil fungistatic principle. Phytopathology 53: 260-264.

Smith, H. C. 1965. The morphology of *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae*, and *V. tricorpus*. New Zealand Journal of Agricultural Research 8: 450-475.

Tari, S., Maleki, M., and Shahriari, D. 2015. Study on pathogenicity variation of the *Verticillium dahliae* and resistance evaluation of the eggplant cultivars to the disease. Applied Plant Pathology 4(1): 1-11. (in Persian).

Wilhelm, S., Sagen, J. E., and Tiety, H. 1985. Phenotype modification in cotton for control of Verticillium wilt through dense plant population culture. Plant Disease 69: 283-288.

Xiao, Y. H., and Lin, B. Q. **1995.** The identification of eggplant germplasms' resistance to *Verticillium* wilt. China Vegetable 1: 32-33 (in Chinese).

Zakeri, A., and Banihashemi, Z. 1996. The role of weeds in cultivated and virgin soil on activity and perpetuation of *Fusariumoxysporum* f. sp. *melonis* in Fars Province. Iranian. Journal of Plant Pathology 32: 28-39.

Zare, R. 2003. A revision of plant-associated *Verticillium* species. Rostaniha 4: 29-54.

Zhou, B., Chen, Z., Du, L., Ye, X., and Li, N. 2012. Correlation between resistance of eggplant and defense-related enzymes and biochemical substances of leaves. African Journal of Biotechnology 11(74): 13896-13902.

Zhou, H., Fang, H., Song, S., and Hughs, S. E. 2014. Evaluation of *Verticillium* wilt resistance in commercial cultivars and advanced line of cotton. Euphytica 196: 437-448.